

16. 6. 2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

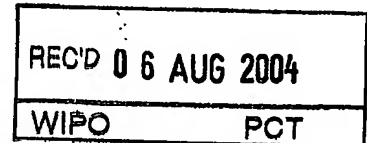
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 6 月 1 6 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 1 7 0 3 2 8
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 3 - 1 7 0 3 2 8]

出 願 人 独立行政法人理化学研究所
Applicant(s): 株式会社医学生物学研究所

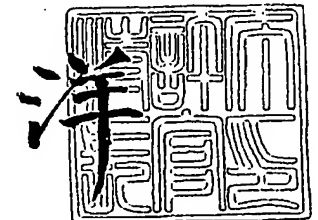


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 7 月 2 2 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願
【整理番号】 A31367A
【提出日】 平成15年 6月16日
【あて先】 特許庁長官 殿
【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所内

【氏名】 宮脇 敦史

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所内

【氏名】 筒井 秀和

【発明者】

【住所又は居所】 長野県伊那市大字手良沢岡字大原1063-103 株式会社医学生物学研究所 伊那研究所内

【氏名】 唐澤 智司

【特許出願人】

【識別番号】 000006792

【氏名又は名称】 理化学研究所

【特許出願人】

【識別番号】 110000109

【氏名又は名称】 株式会社医学生物学研究所

【代理人】

【識別番号】 110000109

【氏名又は名称】 特許業務法人特許事務所サイクス

【代表者】 今村 正純

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 170347

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0205404

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 色素蛋白質

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) 由来の下記の特性を有する色素蛋白質。

- (1) 吸収極大波長が 592 nm である；
- (2) 592 nm におけるモル吸光係数が 87000 である；
- (3) 光吸収特性の pH 感受性が pH 5～10 で安定である；

【請求項 2】 以下の何れかのアミノ酸配列を有する色素蛋白質。

- (a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列；又は、
- (b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、吸光特性を有するアミノ酸配列；

【請求項 3】 請求項 1 又は 2 に記載の蛋白質をコードする DNA。

【請求項 4】 以下の何れかの DNA。

- (a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列をコードする DNA；又は、
- (b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、吸光特性を有する蛋白質をコードする DNA；

【請求項 5】 以下の何れかの塩基配列を有する DNA。

- (a) 配列番号 2 に記載の塩基配列；又は、
- (b) 配列番号 2 に記載の塩基配列において 1 から数個の塩基の欠失、置換及び／又は付加を有する塩基配列を有し、吸光特性を有する蛋白質をコードする塩基配列；

【請求項 6】 請求項 4 又は 5 に記載の DNA を有する組み換えベクター。

【請求項 7】 請求項 4 又は 5 に記載の DNA 又は請求項 6 に記載の組み換えベクターを有する形質転換体。

【請求項 8】 請求項 1 又は 2 に記載の色素蛋白質と他の蛋白質とから成る融合蛋白質。

【請求項 9】 請求項 1 又は 2 に記載の色素蛋白質をアクセプター蛋白質として用いて FRET（蛍光共鳴エネルギー転移）法を行うことを特徴とする、生理活性物質の分析方法。

【請求項 10】 請求項 1 又は 2 に記載の色素蛋白質、請求項 3 から 5 の何れかに記載の DNA、請求項 6 に記載の組み換えベクター、請求項 7 に記載の形質転換体、又は請求項 8 に記載の融合蛋白質を含む、吸光試薬キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規な色素蛋白質に関する。より詳細には、本発明は、ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）由来の新規な色素蛋白質及びその利用に関する。

【0002】

【従来の技術】

クラゲのエクオレア・ビクトリア（*Aequorea victoria*）に由来する緑色蛍光蛋白質（GFP）は、生物系において多くの用途を有する。最近、ランダム突然変異誘発法および半合理的（semi-rational）突然変異誘発法に基づいて、色を変化させたり、折りたたみ特性を改善したり、輝度を高めたり、あるいは pH 感受性を改変したといった様々な GFP 変異体が作製されている。遺伝子組み換え技術により他の蛋白質を GFP 等の蛍光蛋白質に融合させて、それらの発現および輸送のモニタリングを行うことが行われている。

【0003】

最もよく使用される GFP 変異体の一つとして黄色蛍光蛋白質（YFP）が挙げられる。YFP は、クラゲ（*Aequorea*） GFP 変異体の中でも最長波長の蛍光を示す。大部分の YFP の ϵ および Φ は、それぞれ $60,000 \sim 100,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ および $0.6 \sim 0.8$ であり（Tsien, R. Y. (1998). *Ann. Rev. Biochem.* 67, 509-544）、これらの値は、一般的な蛍光団（フルオレセインおよびローダミンなど）の値に匹敵する。従って YFP の絶対的輝度の改善は、ほぼ限界に達しつつある。

【0004】

また、GFP変異体の他の例として、シアン蛍光蛋白質（CFP）があり、E CFP（enhanced cyan fluorescent protein）が知られている。また、イソギンチャク（*Discoma* sp.）からは赤色蛍光蛋白質（RFP）も単離されており、Das Redが知られている。このように蛍光蛋白質は、緑色、黄色、シアン色、赤色の4種が次々と開発されスペクトルの範囲は大幅に広がっている。

【0005】

従来の蛍光蛋白質の量子収率を0に近づけたものが色素蛋白質である。色素蛋白質は、光エネルギーを他のエネルギーに変換する分子を細胞内に導入することができる点で様々な応用が可能である。しかしながら、色素蛋白質の吸収波長特性について報告されている例は少ない。

【0006】

【非特許文献1】

Tsien, R. Y. (1998). *Ann. Rev. Biochem.* 67, 509-544

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）に由来する、ある特定の波長の光を吸収する新規な色素蛋白質を提供することを解決すべき課題とした。

【0008】

【課題を解決するための手段】

上記課題を解決するために本発明者らは鋭意検討し、既知の蛍光蛋白質のアミノ酸配列の情報に基づいて好適なプライマーを設計し、赤色を呈するウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）のcDNAライブラリーから上記プライマーを用いて新規な色素蛋白質をコードする遺伝子を増幅してクローニングすることに成功した。さらに本発明者らは、得られたウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）由来の色素蛋白質の光吸収特性及びpH感受性を解析した。本発明は、これらの知見に基づいて完成したものである。

【0009】

即ち、本発明によれば、ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）由来の下

記の特性を有する色素蛋白質が提供される。

- (1) 吸収極大波長が 592 nm である；
- (2) 592 nm におけるモル吸光係数が 87000 である；
- (3) 光吸収特性の pH 感受性が pH 5～10 で安定である；

【0010】

本発明の別の側面によれば、以下の何れかのアミノ酸配列を有する色素蛋白質が提供される。

- (a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列；又は、
- (b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、吸光特性を有するアミノ酸配列；

【0011】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の蛋白質をコードする DNA が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、以下の何れかの DNA が提供される。

- (a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列をコードする DNA；又は、
- (b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、吸光特性を有する蛋白質をコードする DNA；

【0012】

本発明のさらに別の側面によれば、以下の何れかの塩基配列を有する DNA が提供される。

- (a) 配列番号 2 に記載の塩基配列；又は、
- (b) 配列番号 2 に記載の塩基配列において 1 から数個の塩基の欠失、置換及び／又は付加を有する塩基配列を有し、吸光特性を有する蛋白質をコードする塩基配列；

【0013】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の DNA を有する組み換えベクターが提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、本発明のDNA又は組み換えベクターを有する形質転換体が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の色素蛋白質と他の蛋白質とから成る融合蛋白質が提供される。

【0014】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の色素蛋白質をアクセプター蛋白質として用いてFRET（蛍光共鳴エネルギー転移）法を行うことを特徴とする、生理活性物質の分析方法が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の色素蛋白質、DNA、組み換えベクター、形質転換体、又は融合蛋白質を含む、吸光試薬キットが提供される。

【0015】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

（1）本発明の色素蛋白質

本発明の色素蛋白質は、ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）由来のものであり、下記の特性を有することを特徴とする。

- （1）吸収極大波長が592 nmである；
- （2）592 nmにおけるモル吸光係数が87000である；
- （3）光吸収特性のpH感受性がpH 5～10で安定である；

【0016】

ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）は、刺胞動物門（Cnidaria）の刺胞動物亜門の花虫綱（サンゴ虫類）（Anthozoa）の六放珊瑚亜綱（Hexacorallia）の磯巾着目（Actiniaria）のウメボシイソギンチャク科（Actiniidae）に属するイソギンチャクの1種である。ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）は、日本では九州以北の磯に普通に見られ、触手を広げると水中で赤い花が咲いているように見える。【0017】

なお、本書中以下の実施例では、ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）を出発材料として上記特性を有する色素蛋白質を単離したが、ウメボシイソギンチャク（*Actinia equina*）以外のイソギンチャクから本発明の色素蛋白質を取得

することができる場合もあり、そのような色素蛋白質も本発明の範囲内である。

【0018】

本発明の色素蛋白質は、以下の実施例で示す通り、吸収極大波長が592 nmであり、また、592 nmにおけるモル吸光係数は87000である。

モル吸光係数は蛍光分子1モルあたりの光子の吸収量を表す。量子収率は吸収した光子のどれだけを蛍光として発することができるかを表した数値である。本発明の色素蛋白質の量子収率は極めて低いため、蛍光は殆ど発しない。この性質から、本発明の色素蛋白質は、(1) FRETのアクセプター分子(エネルギー受容体)として用いたり、(2) 照射した光のエネルギーを光以外のエネルギーに変換させるシステムの開発に利用したり、あるいは(3) 蛋白質のアミノ酸配列に変異を導入して蛍光を発するように改変することなどに用いることができる。

【0019】

また、本発明の色素蛋白質は、光吸収特性のpH感受性がpH5~10で安定であることを特徴とする。即ち、本発明の色素蛋白質では、pH5~10の範囲において吸収スペクトルのピーク値の変動が少ない。従って、本発明の色素蛋白質は、広範囲のpH環境において同様の条件で使用することができ、生体内での使用に際しての制約は少ない。

【0020】

本発明の色素蛋白質の具体例としては、以下の何れかのアミノ酸配列を有する色素蛋白質が挙げられる。

- (a) 配列番号1に記載のアミノ酸配列；又は、
- (b) 配列番号1に記載のアミノ酸配列において1から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、吸光特性を有するアミノ酸配列；

【0021】

本明細書で言う「1から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列」における「1から数個」の範囲は特には限定されないが、例えば、1から20個、好ましくは1から10個、より好ましくは1から7個、さらに

好ましくは1から5個、特に好ましくは1から3個程度を意味する。

【0022】

本明細書で言う「吸光特性」とは、ある波長の光を吸収できる特性を意味し、例えば、本明細書に示した色素蛋白質と同様に吸収極大波長が592 nmであってもよいし、あるいは吸収極大波長の値がシフトしたものであってもよい。なお、光吸収特性のpH感受性は、pH 5～10で安定であることが好ましい。

【0023】

上記した通り、本発明の配列表の配列番号1に記載したアミノ酸配列を有する色素蛋白質は蛍光をほとんど発しないものである。本発明においては、配列番号1に記載したアミノ酸配列に対して1から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を導入することにより、より強い蛍光を発する蛋白質を作製してもよく、このような蛋白質も本発明の範囲内に含まれる。

【0024】

本発明の色素蛋白質の取得方法については特に制限はなく、化学合成により合成した蛋白質でもよいし、遺伝子組み換え技術による作製した組み換え蛋白質でもよい。

組み換え蛋白質を作製する場合には、先ず当該蛋白質をコードするDNAを入手することが必要である。本明細書の配列表の配列番号1に記載したアミノ酸配列並びに配列番号2に記載した塩基配列の情報を利用することにより適当なプライマーを設計し、それらを用いて、ウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) 由来のcDNAライブラリーを鋳型にしてPCRを行うことにより、本発明の色素蛋白質をコードするDNAを取得することができる。このDNAを適当な発現系に導入することにより、本発明の色素蛋白質を産生することができる。発現系での発現については本明細書中後記する。

【0025】

(2) 本発明のDNA

本発明によれば、本発明の色素蛋白質をコードする遺伝子が提供される。

本発明の色素蛋白質をコードするDNAの具体例としては、以下の何れかのDNAが挙げられる。

- (a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列をコードする DNA ; 又は、
- (b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、吸光特性を有する蛋白質をコードする DNA :

【0026】

本発明の色素蛋白質をコードする DNA の更なる具体例としては、以下の何れかの塩基配列を有する DNA が挙げられる。

- (a) 配列番号 2 に記載の塩基配列 ; 又は、
- (b) 配列番号 2 に記載の塩基配列において 1 から数個の塩基の欠失、置換及び／又は付加を有する塩基配列を有し、吸光特性を有する蛋白質をコードする塩基配列 :

【0027】

本発明の DNA は、例えばホスホアミダイト法などにより合成することができ、特異的プライマーを用いたポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって製造することもできる。本発明の DNA の作製方法については、本明細書中上述した通りである。

【0028】

また、所定の核酸配列に所望の変異を導入する方法は当業者に公知である。例えば、部位特異的変異誘発法、縮重オリゴヌクレオチドを用いる PCR、核酸を含む細胞の変異誘発剤又は放射線への露出等の公知の技術を適宜使用することによって、変異を有する DNA を構築することができる。このような公知の技術は、例えば、Molecular Cloning: A laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY., 1989、並びに Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, John Wiley & Sons (1987-1997) に記載されている。

【0029】**(3) 本発明の組み換えベクター**

本発明の DNA は適当なベクター中に挿入して使用することができる。本発明で用いるベクターの種類は特に限定されず、例えば、自立的に複製するベクター

(例えばプラスミド等)でもよいし、あるいは、宿主細胞に導入された際に宿主細胞のゲノムに組み込まれ、組み込まれた染色体と共に複製されるものであってもよい。

【0030】

好ましくは、本発明で用いるベクターは発現ベクターである。発現ベクターにおいて本発明のDNAは、転写に必要な要素(例えば、プロモーター等)が機能的に連結されている。プロモータは宿主細胞において転写活性を示すDNA配列であり、宿主の種類に応じて適宜することができる。

【0031】

細菌細胞で作動可能なプロモータとしては、バチルス・ステアロテルモフィルス・マルトジェニック・アミラーゼ遺伝子(*Bacillus stearothermophilus maltogenic amylase gene*)、バチルス・リケニホルミス α アミラーゼ遺伝子(*Bacillus licheniformis alpha-amylase gene*)、バチルス・アミロリケファチエンス・BANアミラーゼ遺伝子(*Bacillus amyloliquefaciens BAN amylase gene*)、バチルス・サブチリス・アルカリプロテアーゼ遺伝子(*Bacillus Subtilis alkaline protease gene*)もしくはバチルス・プミルス・キシロシダーゼ遺伝子(*Bacillus pumilus xylosidase gene*)のプロモータ、またはファージ・ラムダのP_R若しくはP_Lプロモータ、大腸菌の lac、trp若しくはtacプロモータなどが挙げられる。

【0032】

哺乳動物細胞で作動可能なプロモータの例としては、SV40プロモータ、MT-1(メタロチオネイン遺伝子)プロモータ、またはアデノウイルス2主後期プロモータなどがある。昆虫細胞で作動可能なプロモータの例としては、ポリヘドリンプロモータ、P10プロモータ、オートグラフィア・カリホルニカ・ポリヘドロシス塩基性タンパクプロモータ、バキュウロウイルス即時型初期遺伝子1プロモータ、またはバキュウロウイルス39K遅延型初期遺伝子プロモータ等がある。酵母宿主細胞で作動可能なプロモータの例としては、酵母解糖系遺伝子由来のプロモータ、アルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子プロモータ、TP11プロモータ、ADH2-4cプロモータなどが挙げられる。

糸状菌細胞で作動可能なプロモータの例としては、ADH3プロモータまたは

t p i A プロモータなどがある。

【0033】

また、本発明のDNAは必要に応じて、例えばヒト成長ホルモントーミネータまたは真菌宿主についてはT P I 1 トーミネータ若しくはA D H 3 トーミネータのような適切なトーミネータに機能的に結合されてもよい。本発明の組み換えベクターは更に、ポリアデニレーションシグナル(例えばS V 4 0 またはアデノウイルス 5 E 1 b 領域由来のもの)、転写エンハンサ配列(例えばS V 4 0 エンハンサ) および翻訳エンハンサ配列(例えばアデノウイルス V A R N A をコードするもの) のような要素を有していてもよい。

本発明の組み換えベクターは更に、該ベクターが宿主細胞内で複製することを可能にするDNA配列を具備してもよく、その一例としてはS V 4 0 複製起点(宿主細胞が哺乳類細胞のとき) が挙げられる。

【0034】

本発明の組み換えベクターはさらに選択マーカ含有してもよい。選択マーカとしては、例えば、ジヒドロ葉酸レダクターゼ(D H F R) またはシゾサッカロマイセス・ポンベT P I 遺伝子等のようなその補体が宿主細胞に欠けている遺伝子、または例えばアンピシリン、カナマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ネオマイシン若しくはヒグロマイシンのような薬剤耐性遺伝子を挙げることができる。

本発明のDNA、プロモータ、および所望によりトーミネータおよび/または分泌シグナル配列をそれぞれ連結し、これらを適切なベクターに挿入する方法は当業者に周知である。

【0035】

(4) 本発明の形質転換体

本発明のDNA又は組み換えベクターを適当な宿主に導入することによって形質転換体を作製することができる。

本発明のDNAまたは組み換えベクターを導入される宿主細胞は、本発明のDNA構築物を発現できれば任意の細胞でよく、細菌、酵母、真菌および高等真核細胞等が挙げられる。

【0036】

細菌細胞の例としては、バチルスまたはストレプトマイセス等のグラム陽性菌又は大腸菌等のグラム陰性菌が挙げられる。これら細菌の形質転換は、プロトプラスト法、または公知の方法でコンピテント細胞を用いることにより行なえばよい。

哺乳類細胞の例としては、HEK293細胞、HeLa細胞、COS細胞、BHK細胞、CHL細胞またはCHO細胞等が挙げられる。哺乳類細胞を形質転換し、該細胞に導入されたDNA配列を発現させる方法も公知であり、例えば、エレクトロポレーション法、リン酸カルシウム法、リポフェクション法等を用いることができる。

【0037】

酵母細胞の例としては、サッカロマイセスまたはシゾサッカロマイセスに属する細胞が挙げられ、例えば、サッカロマイセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)またはサッカロマイセス・クルイベリ(*Saccharomyces kluyveri*)等が挙げられる。酵母宿主への組み換えベクターの導入方法としては、例えば、エレクトロポレーション法、スフェロプラスト法、酢酸リチウム法等を挙げることができる。

【0038】

他の真菌細胞の例は、糸状菌、例えばアスペルギルス、ニューロスポラ、フザリウム、またはトリコデルマに属する細胞である。宿主細胞として糸状菌を用いる場合、DNA構築物を宿主染色体に組み込んで組換え宿主細胞を得ることにより形質転換を行うことができる。DNA構築物の宿主染色体への組み込みは、公知の方法に従い、例えば相同組換えまたは異種組換えにより行うことができる。

【0039】

昆虫細胞を宿主として用いる場合には、組換え遺伝子導入ベクターおよびバキュロウイルスを昆虫細胞に共導入して昆虫細胞培養上清中に組換えウイルスを得た後、さらに組換えウイルスを昆虫細胞に感染させ、蛋白質を発現させることができる(例えば、*Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual*; 及びカレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、Bio/Techno

logy, 6, 47(1988)等に記載)。

【0040】

バキュロウイルスとしては、例えば、ヨトウガ科昆虫に感染するウイルスであるアウトグラフィ・カリフォルニカ・ヌクレアー・ポリヘドロシス・ウイルス(Autographa californica nuclear polyhedrosis virus)等を用いることができる。

昆虫細胞としては、Spodoptera frugiperdaの卵巣細胞であるSf9、Sf21〔バキュロウイルス・エクスプレッション・ベクターズ、ア・ラボラトリー・マニュアル、ダブリュー・エイチ・フリーマン・アンド・カンパニー(W. H. Freeman and Company)、ニューヨーク(New York)、(1992)〕、Trichoplusia niの卵巣細胞であるHiFive(インビトロジェン社製)等を用いることができる。

組換えウイルスを調製するための、昆虫細胞への組換え遺伝子導入ベクターと上記バキュロウイルスの共導入方法としては、例えば、リン酸カルシウム法又はリポフェクション法等を挙げることができる。

【0041】

上記の形質転換体は、導入されたDNA構築物の発現を可能にする条件下で適切な栄養培地中で培養する。形質転換体の培養物から、本発明の蛋白質を単離精製するには、通常の蛋白質の単離、精製法を用いればよい。

例えば、本発明の蛋白質が、細胞内に溶解状態で発現した場合には、培養終了後、細胞を遠心分離により回収し水系緩衝液に懸濁後、超音波破碎機等により細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。該無細胞抽出液を遠心分離することにより得られた上清から、通常の蛋白質の単離精製法、即ち、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法、脱塩法、有機溶媒による沈殿法、ジエチルアミノエチル(DEAE)セファロース等のレジンを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF(ファルマシア社製)等のレジンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等のレジンを用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を単独あるいは組み合わせて用い、精製標品を得ることができる。

【0042】

(5) 本発明の色素蛋白質及びそれを含む融合蛋白質の利用

本発明の色素蛋白質は、他の蛋白質と融合させることにより、融合蛋白質を構築することができる。本発明の色素蛋白質に融合させる他の蛋白質の種類は特に限定されないが、他の分子と相互作用する蛋白質であることが好ましく、例えば、受容体蛋白質又はそのリガンド、あるいは抗原又は抗体などが挙げられる。


本発明の融合蛋白質の取得方法については特に制限はなく、化学合成により合成した蛋白質でもよいし、遺伝子組み換え技術による作製した組み換え蛋白質でもよい。

【0043】

組み換え融合蛋白質を作製する場合には、先ず当該蛋白質をコードするDNAを入手することが必要である。本発明の色素蛋白質をコードするDNAおよびそれに融合すべき他の蛋白質をコードするDNAは、本明細書中上記した方法またはそれに準じてそれぞれ入手することができる。次いで、これらのDNA断片を順番に遺伝子組み換え技術により連結することにより、所望の融合蛋白質をコードするDNAを得ることができる。このDNAを適当な発現系に導入することにより、本発明の融合蛋白質を産生することができる。

【0044】

分子間の相互作用を分析する手法の一つとして、FRET（蛍光共鳴エネルギー転移）が知られている。FRETでは、例えば、第一の蛍光蛋白質としてのシアン蛍光蛋白質（CFP）で標識した第一の分子と、第二の蛍光蛋白質としての黄色蛍光蛋白質（YFP）で標識した第二の分子とを共存させることにより、黄色蛍光蛋白質（YFP）をアクセプター分子として作用させ、シアン蛍光蛋白質（CFP）をドナー分子として作用させ、両者の間でFRET（蛍光共鳴エネルギー転移）を生じさせることにより、第一の分子と第二の分子との間の相互作用を可視化することができる。即ち、FRETでは2種類の分子にそれぞれ異なる色素を導入し、エネルギーレベルの高い方の色素（ドナー分子）を選択的に励起し、その色素の蛍光を測定し、もう一方の色素（アクセプター分子）からの長波長蛍光も測定して、それらの蛍光変化量によって分子間の相互作用を可視化する



。両方の色素が、2種類の分子の相互作用によって近接したときのみドナー分子の蛍光の減少とアクセプター分子の蛍光の増加が1波長励起2波長測光法により観測される。しかし、アクセプター分子に色素蛋白質を用いた場合は、両方の色素が、2種類の分子の相互作用によって近接したときのみドナー分子の蛍光の減少を生じ1波長励起1波長測光法により観測することができる。即ち、測定機器の簡易化が可能となる。

【0045】

本発明の色素蛋白質は、特に、FRET（蛍光共鳴エネルギー転移）におけるアクセプター分子としての利用価値が高い。即ち、本発明の色素蛋白質と被験物質との融合体（第一の融合体）を作製する。次いで、該被験物質と相互作用する別の被験物質と別の蛍光蛋白質との融合体（第2の融合体）を作製する。そして、第一の融合体と第2の融合体とを相互作用させ、発する蛍光を分析することにより、上記2種類の被験物質間の相互作用を分析することができる。なお、本発明の色素蛋白質を用いたFRET（蛍光共鳴エネルギー転移）は、試験管内で行ってもよいし、細胞内で行ってもよい。

【0046】

（6）本発明のキット

本発明によれば、本明細書に記載した色素蛋白質、融合蛋白質、DNA、組み換えベクター又は形質転換体から選択される少なくとも1種以上を含むことを特徴とする、吸光試薬キットが提供される。本発明のキットは、それ自体既知の通常用いられる材料及び手法で調製することができる。

色素蛋白質又はDNAなどの試薬は、適当な溶媒に溶解することにより保存に適した形態に調製することができる。溶媒としては、水、エタノール、各種緩衝液などを用いることができる。

以下の実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

【0047】

【実施例】

実施例1：イソギンチャクからの新規色素蛋白遺伝子の単離、並びに光吸収特性

の解析

(1) total RNAの抽出

イソギンチャクより色素蛋白遺伝子の単離を行った。材料には赤色を呈する 1 個体のウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) を用いた。凍結したウメボシイソギンチャクを乳鉢で碎き、湿重量 1 グラムに” TRIzol” (GIBCO BRL) を 7.5 ml 加えてホモジナイズし、 $1500\times g$ で 10 分間遠心した。上清にクロロホルム 1.5 ml をくわえ、15秒間攪拌した後 3 分間静置した。 $7500\times g$ で 15分間遠心した。上清にイソプロパノール 3.75 ml をくわえ、15秒間攪拌した後 10分間静置した。 $17000\times g$ で 10分間遠心した。上清を捨て 70% エタノールを 6 ml 加えて $17000\times g$ で 10分間遠心した。上清を捨て沈殿を DEPC 水 $200\mu l$ で溶解した。DEPC 水で溶解した total RNA を 100 倍に希釈して O.D. 260 と O.D. 280 の値を測定して RNA 濃度を測った。1.2 mg の total RNA を得た。

【0048】

(2) First strand cDNAの合成

total RNA $4\mu g$ を使用し、First strand cDNA の合成キット” Ready To Go” (Amersham Pharmacia) により cDNA ($33\mu l$) を合成した。

【0049】

(3) Degenerated PCR

合成した First strand cDNA ($33\mu l$) のうち $3\mu l$ を鋳型として PCR を行った。

プライマーのデザインは既知の蛍光蛋白のアミノ酸配列を見比べて、似ている部分を抜き出し、塩基配列に変換し直し作製した。

使用プライマー


5' - GGI WSB GTI AAY GGV CAY DAN TT -3' (primer1) (配列番号 3)

5' - GTC ITC TTY TGC ACI ACI GGI CCA TYD GVA GGA AA -3' (primer2) (配列番号 4)

I=イノシン、R=A又はG、Y=C又はT、V=A、C又はG、D=A、G又はT S=C又はG、H=A又はT又はC

【0050】

PCR反応液組成



テンプレート (first strand cDNA)	3 μ l
X10 taq バッファー	5 μ l
2.5mM dNTPs	4 μ l
100 μ M primer1	1 μ l
100 μ M primer2	1 μ l
ミリQ	35 μ l
taq polymerase(5U/ μ l)	1 μ l

【0051】

PCR反応条件

94℃ 1 min(PAD)

94℃ 30 sec (denaturation)

58℃ 30 sec (annealing of primers to template)

72℃ 1 min (プライマー伸長)

上記3ステップを35サイクル行った。

72℃ 7 min (最後の伸長)

4℃ 保持

一回目のPCR反応で得られた増幅産物1 μ lをテンプレートとして、もう一度同じ条件でPCRを行った。アガロースゲル電気泳動で、350 bpを切り出し、精製した。

【0052】

(4) サブクローニング及び塩基配列の決定

精製したDNA断片をpT7-blue vector(Novagen)にライゲーションした。大腸菌株(TG1)にトランスフォーメーションしてブルーホワイトセクションを行い、白いコロニーの大腸菌よりplasmid DNAを精製して、挿入されたDNA断片の塩基配列をDNAシーケンサーにより決定した。得られた塩基配列を他の蛍光蛋白遺伝子の塩基配列と比較してそのDNA塩基配列が蛍光蛋白由来のものであるかを判断した。蛍光蛋白遺伝子の一部であると判断したものに関して、5' -RACE法および3' -RACE法による遺伝子全長のクローニングを行った。

【0053】

(5) 5' -RACE法

Degenerated PCRで得られたDNA断片の5'側の塩基配列を決定するために5' -RACE System for Rapid Amplification of cDNA Ends, Version 2.0 (GIBCO BRL)を用いて、5' -RACE法を行った。鋳型として(1)で調製したtotal RNAを4 μ g使用した。

【0054】

赤色の個体由来のDC-tailed cDNAの一回目の増幅には

5' -ggccacgcgtcgactagtaggggiiggggiig-3' (primer3) (配列番号5)

5' - CCT TGA AAA TAA AGC TAT CT-3' (primer4) (配列番号6)

のプライマーを用いた。

I=イノシン。

二回目の増幅には

5' -ggccacgcgtcgactagtag-3' (primer5) (配列番号7)

5' - CCC TGT ATG CTT GTG TCC TG-3' (primer6) (配列番号8)

のプライマーを用いた。PCR反応条件等はキットのプロトコールに準じた。

【0055】

アガロースゲル電気泳動で、増幅された200 bpのバンドを切り出し、精製した。精製したDNA断片をpT7-blue vector (Novagen)にライゲーションした。大腸菌株 (TG1) にトランスフォーメーションしてブルーホワイトセクションを行い、白いコロニーの大腸菌よりplasmid DNAを精製して、挿入されたDNA断片の塩基配列をDNAシーケンサーにより決定した。

【0056】

(6) 全塩基配列の決定、及び大腸菌での蛋白発現

(5)により得られた蛋白のN末端に相当する部分でプライマーを作製し、C末端側はオリゴdTプライマーを使用して、(2)で調製したFirst strand cDNAを鋳型としてPCRを行った。

使用プライマー

5' - CCC GGA TCC GAC CAT GGT GTC TTC ATT GGT TAA GAA -3' (primer7) (配列番号9)

【0057】

PCR反応液組成

テンプレート (first strand cDNA)	3 μ l
X10 pyrobest バッファー	5 μ l
2.5 mM dNTPs	4 μ l
100 μ M primer8	1 μ l
100 μ M オリゴdTプライマー	1 μ l
ミリQ	35 μ l
pyrobest polymerase (5U/ μ l)	1 μ l

【0058】

PCR反応条件

94°C 1 min (PAD)

94°C 30 sec (変性)

52°C 30 sec (鋳型へのプライマーのアニーリング)

72°C 1 min (プライマー伸長)

上記3ステップを30サイクル行った。

72°C 7 min (最後の伸長)

4°C 保持

【0059】

アガロースゲルの電気泳動で、増幅された約900 bpのバンドを切り出し、精製してpRSET vector (Invitrogen) のBamHI、EcoRI部位にサブクローニングして、大腸菌株 (JM109-DE3) で発現させた。またプラスミドを回収し、挿入された全塩基配列を決定した。クローン名はUmeとした。全塩基配列および全アミノ酸配列を配列表の配列番号2及び配列番号1に示す。発現蛋白はN末端にHis-tagが付くようにコンストラクトしたので発現蛋白はNi-Agarose gel (QIAGEN) で精製した。精製の方法は付属のプロトコールに準じた。次に精製した蛋白の性質を解析した。

【0060】

(7) 光吸収特性の解析

10 μ M色素蛋白 (Ume)、50 mM HEPES pH7.9溶液を用いて吸収スペクトルを測定した。このスペクトルのピークの値よりモル吸光係数を計算した。赤色の個体由来色素蛋白 (Ume) では592 nmに吸収のピークが認められた (図1)。測定結果は表1に示す。

【0061】

【表1】

表1

	吸収極大	モル吸光係数	pH感受性	アミノ酸数
Ume	592nm	87000 (592nm)	pH5~10で安定	232

【0062】

(9) pH感受性の測定

50 mMの下記の緩衝液中で蛋白質の吸収スペクトルを測定した (図2)。

各pHの緩衝液は次の通り、

pH4、5 : 酢酸バッファー

pH6 : リン酸バッファー

pH7、8 : HEPESバッファー

pH9、10 : グリシンバッファー

pH5~10でピークの値は安定していた。

【0063】

【発明の効果】

本発明により、ウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) 由来の新規な色素蛋白質が提供されることになった。本発明の色素蛋白質は赤の領域に吸収を示すものであり、またpH感受性が低いことから、分子生物学的分析において有用である。また、本発明の色素蛋白質の吸収度 (モル吸光係数) は著しく大きいため、光エネルギーの高効率な変換が可能である。また、遺伝子改変技術によって本発明の色素蛋白質の量子収率を1に近づけることも可能であり、その場合、新規な蛍光蛋白質を作製することができる。

【0064】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> RIKEN

<120> Chromo protein

<130> A31367A

<160> 9

<210> 1

<211> 232

<212> PRT

<213> Actinia equina

<400> 1

Met Ser Ser Leu Val Lys Lys Asp Met Cys Ile Lys Met Thr Met Glu
 1 5 10 15

Gly Thr Val Asn Gly His His Phe Lys Cys Val Gly Glu Gly Glu Gly
 20 25 30

Lys Pro Phe Glu Gly Thr Gln Glu Glu Lys Ile Arg Ile Thr Glu Gly
 35 40 45

Gly Pro Leu Pro Phe Ala Tyr Asp Ile Leu Ala Pro Cys Cys Met Tyr
 50 55 60

Gly Ser Lys Thr Phe Ile Lys His Val Ser Gly Ile Pro Asp Tyr Phe
 65 70 75 80

Lys Asp Ser Leu Pro Glu Gly Tyr Thr Trp Glu Arg Thr Gln Ile Tyr
 85 90 95

Glu Asp Gly Gly Tyr Leu Thr Ile His Gln Asp Thr Ser Ile Gln Gly
 100 105 110

Asp Ser Phe Ile Phe Lys Val Lys Val Ile Gly Ala Asn Phe Pro Ala
 115 120 125

Asn Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Ala Gly Trp Glu Pro Cys Val
 130 135 140

Glu Met Leu Tyr Pro Arg Asp Gly Val Leu Cys Gly Gln Ser Leu Met

145 150 155 160
 Ala Leu Lys Cys Thr Asp Gly Asn His Leu Thr Ser His Leu Arg Thr
 165 170 175
 Thr Tyr Arg Ser Arg Lys Pro Ala Asn Ala Val Asn Met Pro Lys Phe
 180 185 190
 His Phe Gly Asp His Arg Ile Glu Ile Leu Lys Glu Ala Glu Pro Gly
 195 200 205
 Lys Phe Tyr Glu Gln Tyr Glu Ser Ala Val Ala Arg Tyr Cys Glu Ala
 210 215 220
 Ala Pro Ser Lys Leu Gly His His

225

230

<210> 2

<211> 699

<212> DNA

<213> Actinia equina

<400> 2

atg tct tca ttg gtt aag aag gat atg tgc atc aag atg acc atg gaa 48
 Met Ser Ser Leu Val Lys Lys Asp Met Cys Ile Lys Met Thr Met Glu
 1 5 10 15
 ggg aca gta aat ggt cac cac ttc aag tgt gta gga gaa gga gaa ggc 96
 Gly Thr Val Asn Gly His His Phe Lys Cys Val Gly Glu Gly Glu Gly
 20 25 30
 aag cca ttt gaa ggt acc cag gag gaa aag ata aga atc act gaa gga 144
 Lys Pro Phe Glu Gly Thr Gln Glu Glu Lys Ile Arg Ile Thr Glu Gly
 35 40 45
 ggt ccc tta cca ttt gcg tac gat att ttg gca cct tgt tgc atg tat 192
 Gly Pro Leu Pro Phe Ala Tyr Asp Ile Leu Ala Pro Cys Cys Met Tyr
 50 55 60
 gga agc aaa acc ttc atc aag cat gtc tca ggg att cca gat tac ttc 240

Gly Ser Lys Thr Phe Ile Lys His Val Ser Gly Ile Pro Asp Tyr Phe
 65 70 75 80
 aag gat tct tta cct gaa gga tac act tgg gaa aga acc caa atc tac 288
 Lys Asp Ser Leu Pro Glu Gly Tyr Thr Trp Glu Arg Thr Gln Ile Tyr
 85 90 95
 gag gat gga ggc tat ctt acc att cac cag gac aca agc ata cag gga 336
 Glu Asp Gly Gly Tyr Leu Thr Ile His Gln Asp Thr Ser Ile Gln Gly
 100 105 110
 gat agc ttt att ttc aag gtt aaa gtc atc ggt gcc aac ttc cct gcc 384
 Asp Ser Phe Ile Phe Lys Val Lys Val Ile Gly Ala Asn Phe Pro Ala
 115 120 125
 aat ggt ccc gtg atg cag aag aaa aca gcc gga tgg gaa cca tgc gta 432
 Asn Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Ala Gly Trp Glu Pro Cys Val
 130 135 140
 gag atg ctt tat cca cgt gac gga gtc ctg tgt ggg cag tcc ttg atg 480
 Glu Met Leu Tyr Pro Arg Asp Gly Val Leu Cys Gly Gln Ser Leu Met
 145 150 155 160
 gcc ctg aaa tgc act gat ggt aac cat ttg acg agc cat ctg cga act 528
 Ala Leu Lys Cys Thr Asp Gly Asn His Leu Thr Ser His Leu Arg Thr
 165 170 175
 act tac agg tcc aga aag cca gcc aat gcg gtt aat atg cca aaa ttt 576
 Thr Tyr Arg Ser Arg Lys Pro Ala Asn Ala Val Asn Met Pro Lys Phe
 180 185 190
 cat ttt gga gac cat cgc att gag ata cta aag gaa gca gaa cca ggc 624
 His Phe Gly Asp His Arg Ile Glu Ile Leu Lys Glu Ala Glu Pro Gly
 195 200 205
 aag ttt tat gaa cag tac gaa tca gca gtg gcc agg tac tgt gaa gct 672
 Lys Phe Tyr Glu Gln Tyr Glu Ser Ala Val Ala Arg Tyr Cys Glu Ala
 210 215 220

gca cca tca aag ctt gga cat cac taa

699

Ala Pro Ser Lys Leu Gly His His

225

230

<210> 3

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 3

ggiwsbgtia ayggvcayda ntt

23

<210> 4

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 4

gtcitcttyt gcaciaggg iccatydgva ggaaa

35

<210> 5

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 5

ggccacgcgt cgactagtac gggiigggii gggiig

36

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 6

ccttgaaaat aaagctatct 20

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 7

ggccacgcgt cgactagtac 20

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 8

ccctgtatgc ttgtgcctg 20

<210> 9

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 9

cccgatccg accatggtgt cttcattggt taagaa 36

【図面の簡単な説明】

【図 1】

図 1 は、本発明のウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) 由来の色素蛋白質 (Ume) の吸収スペクトル (pH 7.9) を測定した結果を示す。横軸は吸収光の波長を示し、縦軸は吸光度を示す。

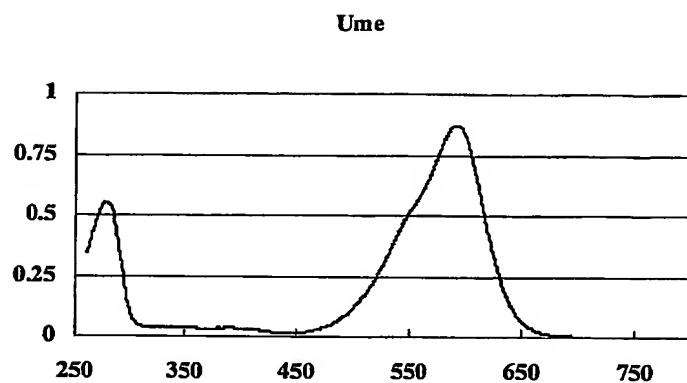
【図 2】

図 2 は、本発明のウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) 由来の色素蛋白質 (Ume) の吸収極大の pH 感受性を示す。横軸は pH 値を示し、縦軸は吸光度を示す。

【書類名】 図面

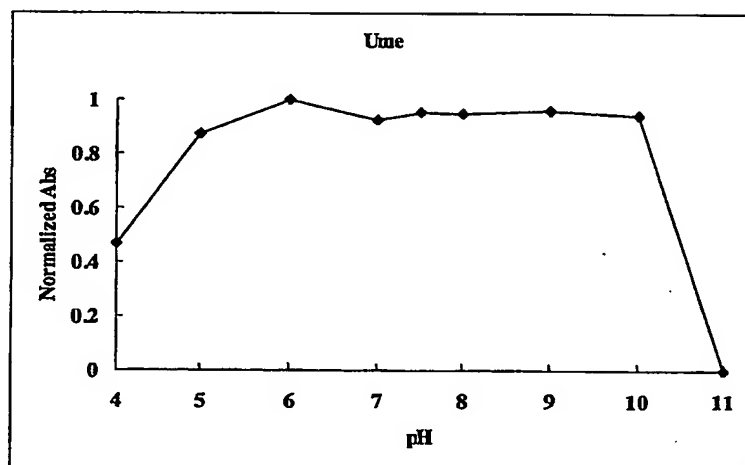
【図 1】

図 1 吸収スペクトル (pH7.9)



【図 2】

図 2 吸収極大の pH 依存性



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 ウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) に由来する、ある特定の波長の光を吸収する新規な色素蛋白質を提供すること。

【解決手段】 ウメボシイソギンチャク (*Actinia equina*) 由来の下記の特性を有する色素蛋白質。

- (1) 吸収極大波長が 5 9 2 n m である；
- (2) 5 9 2 n m におけるモル吸光係数が 8 7 0 0 0 である；
- (3) 光吸収特性の p H 感受性が p H 5 ～ 1 0 で安定である：

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-170328
受付番号	50300999361
書類名	特許願
担当官	塩野 実 2151
作成日	平成15年 7月18日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000006792
【住所又は居所】	埼玉県和光市広沢2番1号
【氏名又は名称】	理化学研究所

【特許出願人】

申請人

【識別番号】	110000109
【住所又は居所】	東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル 8階

【氏名又は名称】	特許業務法人特許事務所サイクス
----------	-----------------

【代理人】

【識別番号】	110000109
【住所又は居所】	東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル 8階

【氏名又は名称】	特許業務法人特許事務所サイクス
----------	-----------------

【書類名】 手続補正書
【整理番号】 A31367A
【提出日】 平成15年 7月15日
【あて先】 特許庁長官 殿
【事件の表示】
 【出願番号】 特願2003-170328
【補正をする者】
 【識別番号】 000006792
 【氏名又は名称】 理化学研究所
【補正をする者】
 【識別番号】 390004097
 【氏名又は名称】 株式会社医学生物学研究所
【代理人】
 【識別番号】 110000109
 【氏名又は名称】 特許業務法人特許事務所サイクス
 【代表者】 今村 正純
【発送番号】 066441
【手続補正1】
 【補正対象書類名】 特許願
 【補正対象項目名】 特許出願人
 【補正方法】 変更
 【補正の内容】
 【特許出願人】
 【識別番号】 000006792
 【氏名又は名称】 理化学研究所
 【特許出願人】
 【識別番号】 390004097
 【氏名又は名称】 株式会社医学生物学研究所

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-170328
受付番号	50301168975
書類名	手続補正書
担当官	塩野 実 2151
作成日	平成15年 7月18日

<認定情報・付加情報>

【補正をする者】

【識別番号】

000006792

【住所又は居所】

埼玉県和光市広沢2番1号

【氏名又は名称】

理化学研究所

【補正をする者】

【識別番号】

390004097

【住所又は居所】

愛知県名古屋市中区丸の内3丁目5番10号 住
友商事丸の内ビル5F

【氏名又は名称】

株式会社医学生物学研究所

【代理人】

申請人

【識別番号】

110000109

【住所又は居所】

東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル
8階

【氏名又は名称】

特許業務法人特許事務所サイクス

【書類名】 出願人名義変更届 (一般承継)
【提出日】 平成15年12月 1日
【あて先】 特許庁長官殿
【事件の表示】
【出願番号】 特願2003-170328
【承継人】
【識別番号】 503359821
【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号
【氏名又は名称】 独立行政法人理化学研究所
【承継人代理人】
【識別番号】 100075812
【弁理士】
【氏名又は名称】 吉武 賢次
【提出物件の目録】
【物件名】 権利の承継を証明する書面 1
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件
にかか一般承継による特許権の移転登録申請書
【物件名】 登記簿謄本 1
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件
にかか一般承継による特許権の移転登録申請書
【物件名】 委任状 1

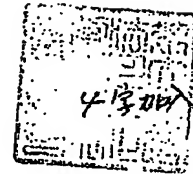
【物件名】

委任状

【添付書類】 225



委 任 状



私は、

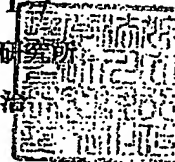
識別番号 100075812 弁理士 吉 武 賢 次 氏
を代理人と定めて下記事項を委任する。

- 954件
1. 別紙目録に記載の特許出願に関する出願人名義変更届をする件
 2. 上記各項の手続を処理するため復代理人を選任及び解任する件

以 上

平成 / 5 年 / 1 月 / 3 日

住所又は居所 埼玉県和光市広沢2番1号
氏名又は名称 独立行政法人 理化学研究所
代 表 者 理事長 野 依 良 治



目録(1)

- | | |
|---------------------------------|-------------------|
| 1. 特願昭63-235737 | 51. 特願平07-327372 |
| 2. 特願平05-044143 | 52. 特願平08-000652 |
| 3. 特願平05-127257 | 53. 特願平08-026368 |
| 4. 特願平05-127258 | 54. 特願平08-030850 |
| 5. 特願平05-213675 | 55. 特願平08-041279 |
| 6. 特願平05-306164 | 56. 特願平08-045903 |
| 7. 特願平05-328611 | 57. 特願平08-051604 |
| 8. 特願平05-336746 | 58. 特願平08-065715 |
| 9. 特願平06-035100 | 59. 特願平08-070071 |
| 10. 特願平06-061792 | 60. 特願平08-105667 |
| 11. 特願平06-061793 | 61. 特願平08-107784 |
| 12. 特願平06-069150 | 62. 特願平08-116473 |
| 13. 特願平06-097098 | 63. 特願平08-123475 |
| 14. 特願平06-111624 | 64. 特願平08-127005 |
| 15. 特願平06-121100 | 65. 特願平08-131746 |
| 16. 特願平06-145908 | 66. 特願平08-132846 |
| 17. 特願平06-158670 | 67. 特願平08-132854 |
| 18. 特願平06-158671 | 68. 特願平08-142676 |
| 19. 特願平06-165751 | 69. 特願平08-158078 |
| 20. 特願平06-165752 | 70. 特願平08-167401 |
| 21. 特願平06-181857 | 71. 特願平08-196331 |
| 22. 特願平06-235742 | 72. 特願平08-197050 |
| 23. 特願平06-238603 | 73. 特願平08-197051 |
| 24. 特願平06-244764 | 74. 特願平08-211946 |
| 25. 特願平06-248486 | 75. 特願平08-216506 |
| 26. 特願平06-252942 | 76. 特願平08-216508 |
| 27. 特願平06-268723 | 77. 特願平08-222352 |
| 28. 特願平06-293933 | 78. 特願平08-231066 |
| 29. 特願平06-301372 | 79. 特願平08-233442 |
| 30. 特願平06-323795 | 80. 特願平08-236685 |
| 31. 特願平06-324490 | 81. 特願平08-251410 |
| 32. 特願平06-507966 (不刊2002-12420) | 82. 特願平08-262051 |
| 33. 特願平07-0007185 | 83. 特願平08-302896 |
| 34. 特願平07-069265 | 84. 特願平08-308335 |
| 35. 特願平07-082880 | 85. 特願平08-308336 |
| 36. 特願平07-083142 | 86. 特願平08-311467 |
| 37. 特願平07-117933 | 87. 特願平08-315093 |
| 38. 特願平07-133487 | 88. 特願平08-317622 |
| 39. 特願平07-205141 | 89. 特願平08-320241 |
| 40. 特願平07-214659 | 90. 特願平08-506395 |
| 41. 特願平07-217276 | 91. 特願平09-002295 |
| 42. 特願平07-236185 | 92. 特願平09-010602 |
| 43. 特願平07-240684 | 93. 特願平09-019968 |
| 44. 特願平07-249244 | 94. 特願平09-019969 |
| 45. 特願平07-259922 | 95. 特願平09-019971 |
| 46. 特願平07-282716 | 96. 特願平09-024890 |
| 47. 特願平07-302793 | 97. 特願平09-028982 |
| 48. 特願平07-306004 | 98. 特願平09-046824 |
| 49. 特願平07-311711 | 99. 特願平09-049254 |
| 50. 特願平07-311715 | 100. 特願平09-053478 |

目録(2)

- | | |
|-------------------|-------------------|
| 101. 特願平09-054595 | 151. 特願平10-045434 |
| 102. 特願平09-056654 | 152. 特願平10-049499 |
| 103. 特願平09-057342 | 153. 特願平10-049867 |
| 104. 特願平09-058774 | 154. 特願平10-051489 |
| 105. 特願平09-067611 | 155. 特願平10-051490 |
| 106. 特願平09-074394 | 156. 特願平10-051491 |
| 107. 特願平09-080480 | 157. 特願平10-051492 |
| 108. 特願平09-082965 | 158. 特願平10-051493 |
| 109. 特願平09-091523 | 159. 特願平10-060740 |
| 110. 特願平09-091591 | 160. 特願平10-060741 |
| 111. 特願平09-091694 | 161. 特願平10-061895 |
| 112. 特願平09-096988 | 162. 特願平10-076139 |
| 113. 特願平09-099061 | 163. 特願平10-085207 |
| 114. 特願平09-099109 | 164. 特願平10-085208 |
| 115. 特願平09-104093 | 165. 特願平10-103083 |
| 116. 特願平09-119730 | 166. 特願平10-103115 |
| 117. 特願平09-129068 | 167. 特願平10-103671 |
| 118. 特願平09-134525 | 168. 特願平10-104093 |
| 119. 特願平09-147964 | 169. 特願平10-113493 |
| 120. 特願平09-155364 | 170. 特願平10-116378 |
| 121. 特願平09-159963 | 171. 特願平10-121456 |
| 122. 特願平09-163630 | 172. 特願平10-127520 |
| 123. 特願平09-163631 | 173. 特願平10-136198 |
| 124. 特願平09-171924 | 174. 特願平10-149603 |
| 125. 特願平09-175896 | 175. 特願平10-150494 |
| 126. 特願平09-180423 | 176. 特願平10-151245 |
| 127. 特願平09-189436 | 177. 特願平10-155838 |
| 128. 特願平09-198201 | 178. 特願平10-155841 |
| 129. 特願平09-208866 | 179. 特願平10-156104 |
| 130. 特願平09-221067 | 180. 特願平10-156108 |
| 131. 特願平09-228345 | 181. 特願平10-198313 |
| 132. 特願平09-230870 | 182. 特願平10-200280 |
| 133. 特願平09-253740 | 183. 特願平10-217132 |
| 134. 特願平09-256795 | 184. 特願平10-217180 |
| 135. 特願平09-271782 | 185. 特願平10-222837 |
| 136. 特願平09-281995 | 186. 特願平10-227939 |
| 137. 特願平09-287084 | 187. 特願平10-229591 |
| 138. 特願平09-307627 | 188. 特願平10-232520 |
| 139. 特願平09-308597 | 189. 特願平10-232590 |
| 140. 特願平09-309848 | 190. 特願平10-236009 |
| 141. 特願平09-327140 | 191. 特願平10-237485 |
| 142. 特願平09-327609 | 192. 特願平10-238144 |
| 143. 特願平09-328742 | 193. 特願平10-245293 |
| 144. 特願平09-360327 | 194. 特願平10-250598 |
| 145. 特願平10-002030 | 195. 特願平10-250611 |
| 146. 特願平10-010471 | 196. 特願平10-252128 |
| 147. 特願平10-014152 | 197. 特願平10-260347 |
| 148. 特願平10-015690 | 198. 特願平10-260416 |
| 149. 特願平10-024892 | 199. 特願平10-268791 |
| 150. 特願平10-043335 | 200. 特願平10-269859 |

目録(3)

201.	特願平 10-272529	251.	特願平 11-135137
202.	特願平 10-280351	252.	特願平 11-135482
203.	特願平 10-308533	253.	特願平 11-143429
204.	特願平 10-309765	254.	特願平 11-144005
205.	特願平 10-311673	255.	特願平 11-147097
206.	特願平 10-311674	256.	特願平 11-151099
207.	特願平 10-311675	257.	特願平 11-166247
208.	特願平 10-314856	258.	特願平 11-173839
209.	特願平 10-315751	259.	特願平 11-179278
210.	特願平 10-338896	260.	特願平 11-186052
211.	特願平 10-338897	261.	特願平 11-193235
212.	特願平 10-338898	262.	特願平 11-224269
213.	特願平 10-338899	263.	特願平 11-225060
214.	特願平 10-352428	264.	特願平 11-225832
215.	特願平 10-354665	265.	特願平 11-225839
216.	特願平 10-363297	266.	特願平 11-226176
217.	特願平 10-363329	267.	特願平 11-234800
218.	特願平 10-506788	268.	特願平 11-240325
219.	特願平 10-532832	269.	特願平 11-240910
220.	特願平 10-535583	270.	特願平 11-241737
221.	特願平 11-008183	271.	特願平 11-242438
222.	特願平 11-013380	272.	特願平 11-242490
223.	特願平 11-015176	273.	特願平 11-253851
224.	特願平 11-031724	274.	特願平 11-260947
225.	特願平 11-035776	275.	特願平 11-277759
226.	特願平 11-046372	276.	特願平 11-278976
227.	特願平 11-055835	277.	特願平 11-279324
228.	特願平 11-055867	278.	特願平 11-281632
229.	特願平 11-055930	279.	特願平 11-303976
230.	特願平 11-056957	280.	特願平 11-309616
231.	特願平 11-057381	281.	特願平 11-315036
232.	特願平 11-057749	282.	特願平 11-321282
233.	特願平 11-058103	283.	特願平 11-336079
234.	特願平 11-061079	284.	特願平 11-346467
235.	特願平 11-061080	285.	特願平 11-354563
236.	特願平 11-064193	286.	特願平 11-360274
237.	特願平 11-064372	287.	特願平 11-365899
238.	特願平 11-064506	288.	特願平 11-373483
239.	特願平 11-065136	289.	特願平 11-510791
240.	特願平 11-074385	290.	特願平 11-515324
241.	特願平 11-081225	291.	特願 2000-001783
242.	特願平 11-090383	292.	特願 2000-005221
243.	特願平 11-091875	293.	特願 2000-009363
244.	特願平 11-103231	294.	特願 2000-010516
245.	特願平 11-104509	295.	特願 2000-011147
246.	特願平 11-106920	296.	特願 2000-011623
247.	特願平 11-124187	297.	特願 2000-016518
248.	特願平 11-130771	298.	特願 2000-016622
249.	特願平 11-130814	299.	特願 2000-017112
250.	特願平 11-130815	300.	特願 2000-018612

目録(4)

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 301. 特願2000-019195 | 351. 特願2000-141763 |
| 302. 特願2000-019528 | 352. 特願2000-148843 |
| 303. 特願2000-020067 | 353. 特願2000-152455 |
| 304. 特願2000-030321 | 354. 特願2000-152469 |
| 305. 特願2000-034109 | 355. 特願2000-154484 |
| 306. 特願2000-039082 | 356. 特願2000-161895 |
| 307. 特願2000-040355 | 357. 特願2000-163122 |
| 308. 特願2000-041927 | 358. 特願2000-164584 |
| 309. 特願2000-041929 | 359. 特願2000-179723 |
| 310. 特願2000-045318 | 360. 特願2000-181281 |
| 311. 特願2000-045855 | 361. 特願2000-184259 |
| 312. 特願2000-051488 | 362. 特願2000-184295 |
| 313. 特願2000-051650 | 363. 特願2000-191007 |
| 314. 特願2000-052040 | 364. 特願2000-191265 |
| 315. 特願2000-053707 | 365. 特願2000-192332 |
| 316. 特願2000-054949 | 366. 特願2000-193817 |
| 317. 特願2000-056093 | 367. 特願2000-195384 |
| 318. 特願2000-056879 | 368. 特願2000-196991 |
| 319. 特願2000-057564 | 369. 特願2000-197022 |
| 320. 特願2000-057565 | 370. 特願2000-202801 |
| 321. 特願2000-057566 | 371. 特願2000-216457 |
| 322. 特願2000-058133 | 372. 特願2000-223714 |
| 323. 特願2000-058282 | 373. 特願2000-224970 |
| 324. 特願2000-062316 | 374. 特願2000-225486 |
| 325. 特願2000-064142 | 375. 特願2000-225864 |
| 326. 特願2000-064209 | 376. 特願2000-225978 |
| 327. 特願2000-071119 | 377. 特願2000-226361 |
| 328. 特願2000-076122 | 378. 特願2000-229191 |
| 329. 特願2000-085874 | 379. 特願2000-230551 |
| 330. 特願2000-089078 | 380. 特願2000-237165 |
| 331. 特願2000-092693 | 381. 特願2000-237166 |
| 332. 特願2000-100395 | 382. 特願2000-237533 |
| 333. 特願2000-105139 | 383. 特願2000-246309 |
| 334. 特願2000-105917 | 384. 特願2000-248331 |
| 335. 特願2000-107160 | 385. 特願2000-249232 |
| 336. 特願2000-108409 | 386. 特願2000-256149 |
| 337. 特願2000-109638 | 387. 特願2000-257080 |
| 338. 特願2000-109954 | 388. 特願2000-257083 |
| 339. 特願2000-118361 | 389. 特願2000-260030 |
| 340. 特願2000-120874 | 390. 特願2000-261233 |
| 341. 特願2000-123634 | 391. 特願2000-264743 |
| 342. 特願2000-128431 | 392. 特願2000-265344 |
| 343. 特願2000-131049 | 393. 特願2000-278502 |
| 344. 特願2000-131050 | 394. 特願2000-279557 |
| 345. 特願2000-131745 | 395. 特願2000-292422 |
| 346. 特願2000-134427 | 396. 特願2000-292832 |
| 347. 特願2000-136551 | 397. 特願2000-299812 |
| 348. 特願2000-136572 | 398. 特願2000-307464 |
| 349. 特願2000-138977 | 399. 特願2000-308248 |
| 350. 特願2000-141566 | 400. 特願2000-309581 |

目 録 (5)

401. 特願 2000-319775	451. 特願 2001-071435
402. 特願 2000-322056	452. 特願 2001-072650
403. 特願 2000-333311	453. 特願 2001-072668
404. 特願 2000-334686	454. 特願 2001-072963
405. 特願 2000-334969	455. 特願 2001-073028
406. 特願 2000-343912	456. 特願 2001-074964
407. 特願 2000-347398	457. 特願 2001-074965
408. 特願 2000-347865	458. 特願 2001-077257
409. 特願 2000-358121	459. 特願 2001-078671
410. 特願 2000-368566	460. 特願 2001-084173
411. 特願 2000-374626	461. 特願 2001-089541
412. 特願 2000-375090	462. 特願 2001-091911
413. 特願 2000-378421	463. 特願 2001-092337
414. 特願 2000-378942	464. 特願 2001-116171
415. 特願 2000-378950	465. 特願 2001-124294
416. 特願 2000-384771	466. 特願 2001-124452
417. 特願 2000-387016	467. 特願 2001-127575
418. 特願 2000-394815	468. 特願 2001-127576
419. 特願 2000-396445	469. 特願 2001-135357
420. 特願 2000-399940	470. 特願 2001-137087
421. 特願 2000-400336	471. 特願 2001-138103
422. 特願 2000-401110	472. 特願 2001-142583
423. 特願 2000-401245	473. 特願 2001-147081
424. 特願 2000-401258	474. 特願 2001-152364
425. 特願 2000-503838	475. 特願 2001-152379
426. 特願 2000-571733	476. 特願 2001-153447
427. 特願 2000-571943	477. 特願 2001-155572
428. 特願 2000-602588	478. 特願 2001-163740
429. 特願 2000-602900	479. 特願 2001-164819
430. 特願 2000-618709	480. 特願 2001-164997
431. 特願 2001-003476	481. 特願 2001-165133
432. 特願 2001-005616	482. 特願 2001-167910
433. 特願 2001-007979	483. 特願 2001-168784
434. 特願 2001-016626	484. 特願 2001-171705
435. 特願 2001-025030	485. 特願 2001-173331
436. 特願 2001-037141	486. 特願 2001-174421
437. 特願 2001-037147	487. 特願 2001-174553
438. 特願 2001-042501	488. 特願 2001-175898
439. 特願 2001-044933	489. 特願 2001-178169
440. 特願 2001-047762	490. 特願 2001-179858
441. 特願 2001-050645	491. 特願 2001-180552
442. 特願 2001-053550	492. 特願 2001-180554
443. 特願 2001-054717	493. 特願 2001-187735
444. 特願 2001-059115	494. 特願 2001-197185
445. 特願 2001-059892	495. 特願 2001-197897
446. 特願 2001-060848	496. 特願 2001-200854
447. 特願 2001-062703	497. 特願 2001-201356
448. 特願 2001-065799	498. 特願 2001-202971
449. 特願 2001-065917	499. 特願 2001-203089
450. 特願 2001-068285	500. 特願 2001-206505

目録(6)

501. 特願2001-206522	551. 特願2001-325367
502. 特願2001-206523	552. 特願2001-326872
503. 特願2001-209305	553. 特願2001-327853
504. 特願2001-212947	554. 特願2001-329023
505. 特願2001-216505	555. 特願2001-332168
506. 特願2001-220219	556. 特願2001-337467
507. 特願2001-226176	557. 特願2001-339396
508. 特願2001-228287	558. 特願2001-339593
509. 特願2001-228374	559. 特願2001-346035
510. 特願2001-235412	560. 特願2001-347316
511. 特願2001-235747	561. 特願2001-347637
512. 特願2001-238951	562. 特願2001-349614
513. 特願2001-241023	563. 特願2001-351730
514. 特願2001-243930	564. 特願2001-352189
515. 特願2001-246642	565. 特願2001-353038
516. 特願2001-249976	566. 特願2001-358446
517. 特願2001-254377	567. 特願2001-358581
518. 特願2001-254378	568. 特願2001-359710
519. 特願2001-255589	569. 特願2001-374928
520. 特願2001-256576	570. 特願2001-376591
521. 特願2001-257188	571. 特願2001-378757
522. 特願2001-261158	572. 特願2001-380473
523. 特願2001-266004	573. 特願2001-382537
524. 特願2001-266069	574. 特願2001-382539
525. 特願2001-266454	575. 特願2001-382599
526. 特願2001-267194	576. 特願2001-385258
527. 特願2001-267379	577. 特願2001-385512
528. 特願2001-267863	578. 特願2001-385513
529. 特願2001-272977	579. 特願2001-385538
530. 特願2001-273964	580. 特願2001-388116
531. 特願2001-276053	581. 特願2001-390122
532. 特願2001-279406	582. 特願2001-392087
533. 特願2001-280319	583. 特願2001-392088
534. 特願2001-285145	584. 特願2001-395196
535. 特願2001-291059	585. 特願2001-396120
536. 特願2001-292223	586. 特願2001-397762
537. 特願2001-292224	587. 特願2001-397998
538. 特願2001-293000	588. 特願2001-401139
539. 特願2001-293054	589. 特願2001-515803
540. 特願2001-293936	590. 特願2001-523852
541. 特願2001-294013	591. 特願2001-557672
542. 特願2001-298140	592. 特願2002-000993
543. 特願2001-298402	593. 特願2002-005746
544. 特願2001-307340	594. 特願2002-010344
545. 特願2001-309501	595. 特願2002-011558
546. 特願2001-309508	596. 特願2002-019752
547. 特願2001-309984	597. 特願2002-020329
548. 特願2001-310554	598. 特願2002-022499
549. 特願2001-313430	599. 特願2002-028046
550. 特願2001-319360	600. 特願2002-028109

目 録 (7)

601. 特願 2002-040151	651. 特願 2002-162157
602. 特願 2002-042829	652. 特願 2002-162211
603. 特願 2002-044340	653. 特願 2002-162365
604. 特願 2002-044640	654. 特願 2002-167759
605. 特願 2002-046188	655. 特願 2002-170068
606. 特願 2002-047799	656. 特願 2002-170902
607. 特願 2002-053190	657. 特願 2002-176435
608. 特願 2002-053575	658. 特願 2002-176583
609. 特願 2002-055272	659. 特願 2002-183722
610. 特願 2002-057253	660. 特願 2002-185966
611. 特願 2002-057565	661. 特願 2002-187362
612. 特願 2002-057935	662. 特願 2002-187957
613. 特願 2002-057963	663. 特願 2002-188281
614. 特願 2002-066249	664. 特願 2002-189265
615. 特願 2002-070624	665. 特願 2002-194627
616. 特願 2002-070987	666. 特願 2002-197812
617. 特願 2002-071924	667. 特願 2002-201443
618. 特願 2002-074902	668. 特願 2002-201575
619. 特願 2002-078164	669. 特願 2002-202118
620. 特願 2002-081467	670. 特願 2002-205814
621. 特願 2002-081502	671. 特願 2002-205825
622. 特願 2002-083081	672. 特願 2002-217714
623. 特願 2002-084139	673. 特願 2002-221188
624. 特願 2002-085017	674. 特願 2002-225469
625. 特願 2002-087342	675. 特願 2002-225724
626. 特願 2002-094681	676. 特願 2002-226859
627. 特願 2002-095132	677. 特願 2002-227286
628. 特願 2002-095389	678. 特願 2002-229686
629. 特願 2002-100431	679. 特願 2002-230562
630. 特願 2002-106561	680. 特願 2002-235294
631. 特願 2002-119320	681. 特願 2002-235737
632. 特願 2002-120371	682. 特願 2002-236838
633. 特願 2002-123347	683. 特願 2002-237058
634. 特願 2002-128854	684. 特願 2002-237092
635. 特願 2002-133717	685. 特願 2002-248946
636. 特願 2002-133749	686. 特願 2002-253322
637. 特願 2002-134313	687. 特願 2002-253689
638. 特願 2002-141187	688. 特願 2002-253697
639. 特願 2002-141438	689. 特願 2002-254096
640. 特願 2002-142260	690. 特願 2002-257924
641. 特願 2002-149471	691. 特願 2002-260788
642. 特願 2002-149931	692. 特願 2002-261499
643. 特願 2002-150541	693. 特願 2002-264969
644. 特願 2002-154688	694. 特願 2002-267114
645. 特願 2002-154695	695. 特願 2002-268987
646. 特願 2002-154823	696. 特願 2002-270917
647. 特願 2002-158237	697. 特願 2002-271375
648. 特願 2002-158352	698. 特願 2002-271473
649. 特願 2002-160277	699. 特願 2002-273996
650. 特願 2002-162148	700. 特願 2002-274469

目 録 (8)

701. 特願 2002-276051	751. 特願 2003-012738
702. 特願 2002-282746	752. 特願 2003-012774
703. 特願 2002-286487	753. 特願 2003-015968
704. 特願 2002-289209	754. 特願 2003-016044
705. 特願 2002-295332	755. 特願 2003-016940
706. 特願 2002-296911	756. 特願 2003-017397
707. 特願 2002-299429	757. 特願 2003-021499
708. 特願 2002-301875	758. 特願 2003-024347
709. 特願 2002-303838	759. 特願 2003-024620
710. 特願 2002-312131	760. 特願 2003-025277
711. 特願 2002-320102	761. 特願 2003-027647
712. 特願 2002-320704	762. 特願 2003-027648
713. 特願 2002-325909	763. 特願 2003-031882
714. 特願 2002-325920	764. 特願 2003-032932
715. 特願 2002-332232	765. 特願 2003-038206
716. 特願 2002-339344	766. 特願 2003-040642
717. 特願 2002-339392	767. 特願 2003-043961
718. 特願 2002-339541	768. 特願 2003-050153
719. 特願 2002-339551	769. 特願 2003-050446
720. 特願 2002-341195	770. 特願 2003-052520
721. 特願 2002-343807	771. 特願 2003-052602
722. 特願 2002-344279	772. 特願 2003-052613
723. 特願 2002-345597	773. 特願 2003-052877
724. 特願 2002-347401	774. 特願 2003-053023
725. 特願 2002-348760	775. 特願 2003-054182
726. 特願 2002-349042	776. 特願 2003-054798
727. 特願 2002-354594	777. 特願 2003-054799
728. 特願 2002-357768	778. 特願 2003-054846
729. 特願 2002-357900	779. 特願 2003-054847
730. 特願 2002-358019	780. 特願 2003-054848
731. 特願 2002-358967	781. 特願 2003-054849
732. 特願 2002-360972	782. 特願 2003-055452
733. 特願 2002-360975	783. 特願 2003-056628
734. 特願 2002-368112	784. 特願 2003-061426
735. 特願 2002-376555	785. 特願 2003-063532
736. 特願 2002-376774	786. 特願 2003-065013
737. 特願 2002-376831	787. 特願 2003-071028
738. 特願 2002-379214	788. 特願 2003-072979
739. 特願 2002-380624	789. 特願 2003-074168
740. 特願 2002-381888	790. 特願 2003-076107
741. 特願 2002-382170	791. 特願 2003-078999
742. 特願 2002-383870	792. 特願 2003-079598
743. 特願 2002-521644	793. 特願 2003-079613
744. 特願 2002-532458	794. 特願 2003-082466
745. 特願 2002-546564	795. 特願 2003-083318
746. 特願 2002-548185	796. 特願 2003-083433
747. 特願 2002-570743	797. 特願 2003-083480
748. 特願 2003-003450	798. 特願 2003-085193
749. 特願 2003-012550	799. 特願 2003-089026
750. 特願 2003-012694	800. 特願 2003-090331

目録(9)

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 801. 特願2003-091446 | 851. 特願2003-127135 |
| 802. 特願2003-092654 | 852. 特願2003-127150 |
| 803. 特願2003-093642 | 853. 特願2003-128818 |
| 804. 特願2003-094272 | 854. 特願2003-128897 |
| 805. 特願2003-094719 | 855. 特願2003-129347 |
| 806. 特願2003-095770 | 856. 特願2003-131313 |
| 807. 特願2003-095884 | 857. 特願2003-132280 |
| 808. 特願2003-095885 | 858. 特願2003-132605 |
| 809. 特願2003-095886 | 859. 特願2003-132606 |
| 810. 特願2003-095904 | 860. 特願2003-135591 |
| 811. 特願2003-097283 | 861. 特願2003-136445 |
| 812. 特願2003-097327 | 862. 特願2003-139397 |
| 813. 特願2003-101917 | 863. 特願2003-140684 |
| 814. 特願2003-104928 | 864. 特願2003-142303 |
| 815. 特願2003-105362 | 865. 特願2003-143932 |
| 816. 特願2003-107267 | 866. 特願2003-145221 |
| 817. 特願2003-107268 | 867. 特願2003-145390 |
| 818. 特願2003-107647 | 868. 特願2003-147820 |
| 819. 特願2003-107885 | 869. 特願2003-150690 |
| 820. 特願2003-109575 | 870. 特願2003-153014 |
| 821. 特願2003-115750 | 871. 特願2003-153015 |
| 822. 特願2003-115793 | 872. 特願2003-153016 |
| 823. 特願2003-115847 | 873. 特願2003-153985 |
| 824. 特願2003-115888 | 874. 特願2003-154009 |
| 825. 特願2003-116232 | 875. 特願2003-154841 |
| 826. 特願2003-116895 | 876. 特願2003-155397 |
| 827. 特願2003-118161 | 877. 特願2003-155407 |
| 828. 特願2003-118186 | 878. 特願2003-158017 |
| 829. 特願2003-119749 | 879. 特願2003-161005 |
| 830. 特願2003-119930 | 880. 特願2003-164126 |
| 831. 特願2003-120934 | 881. 特願2003-170051 |
| 832. 特願2003-121233 | 882. 特願2003-170324 |
| 833. 特願2003-121261 | 883. 特願2003-170325 |
| 834. 特願2003-121273 | 884. 特願2003-170326 |
| 835. 特願2003-121780 | 885. 特願2003-170327 |
| 836. 特願2003-122245 | 886. 特願2003-170328 |
| 837. 特願2003-123984 | 887. 特願2003-170329 |
| 838. 特願2003-124654 | 888. 特願2003-170330 |
| 839. 特願2003-124655 | 889. 特願2003-170573 |
| 840. 特願2003-124826 | 890. 特願2003-171576 |
| 841. 特願2003-124829 | 891. 特願2003-171619 |
| 842. 特願2003-124833 | 892. 特願2003-172898 |
| 843. 特願2003-124835 | 893. 特願2003-175819 |
| 844. 特願2003-125388 | 894. 特願2003-177298 |
| 845. 特願2003-125403 | 895. 特願2003-180198 |
| 846. 特願2003-125405 | 896. 特願2003-182958 |
| 847. 特願2003-127090 | 897. 特願2003-192763 |
| 848. 特願2003-127093 | 898. 特願2003-192775 |
| 849. 特願2003-127109 | 899. 特願2003-194837 |
| 850. 特願2003-127130 | 900. 特願2003-197229 |

目 録 (10)

- | | |
|---------------------|---------------------|
| 901. 特願 2003-198340 | 951. 特願 2003-338191 |
| 902. 特願 2003-204075 | 952. 特願 2003-339542 |
| 903. 特願 2003-205349 | 953. 特願 2003-340181 |
| 904. 特願 2003-205710 | 954. 特願 2003-342519 |
| 905. 特願 2003-206546 | |
| 906. 特願 2003-207698 | |
| 907. 特願 2003-207771 | |
| 908. 特願 2003-207772 | |
| 909. 特願 2003-207850 | |
| 910. 特願 2003-270049 | |
| 911. 特願 2003-271473 | |
| 912. 特願 2003-272421 | |
| 913. 特願 2003-275055 | |
| 914. 特願 2003-277958 | |
| 915. 特願 2003-279130 | |
| 916. 特願 2003-283972 | |
| 917. 特願 2003-284055 | |
| 918. 特願 2003-286640 | |
| 919. 特願 2003-289138 | |
| 920. 特願 2003-293912 | |
| 921. 特願 2003-296474 | |
| 922. 特願 2003-298558 | |
| 923. 特願 2003-299424 | |
| 924. 特願 2003-303979 | |
| 925. 特願 2003-304452 | |
| 926. 特願 2003-304453 | |
| 927. 特願 2003-305689 | |
| 928. 特願 2003-305844 | |
| 929. 特願 2003-306137 | |
| 930. 特願 2003-307564 | |
| 931. 特願 2003-313014 | |
| 932. 特願 2003-315355 | |
| 933. 特願 2003-318801 | |
| 934. 特願 2003-321497 | |
| 935. 特願 2003-322948 | |
| 936. 特願 2003-324974 | |
| 937. 特願 2003-326510 | |
| 938. 特願 2003-327645 | |
| 939. 特願 2003-327907 | |
| 940. 特願 2003-328600 | |
| 941. 特願 2003-328840 | |
| 942. 特願 2003-330418 | |
| 943. 特願 2003-330569 | |
| 944. 特願 2003-331848 | |
| 945. 特願 2003-332756 | |
| 946. 特願 2003-333798 | |
| 947. 特願 2003-333932 | |
| 948. 特願 2003-334036 | |
| 949. 特願 2003-334083 | |
| 950. 特願 2003-336365 | |

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-170328
受付番号	20308550879
書類名	出願人名義変更届 (一般承継)
担当官	塩野 実 2151
作成日	平成16年 3月17日

<認定情報・付加情報>

【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状 (代理権を証明する書面)	1
---------	------------------	---

特願 2003-170328

出願人履歴情報

識別番号

[000006792]

1. 変更年月日

1990年 8月28日

[変更理由]

新規登録

住所

埼玉県和光市広沢2番1号

氏名

理化学研究所

特願 2003-170328

出願人履歴情報

識別番号

[110000109]

1. 変更年月日

2002年 2月 8日

[変更理由]

新規登録

住所

東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル8階

氏名

特許業務法人特許事務所サイクス

特願 2003-170328

ページ: 3

出願人履歴情報

識別番号

[390004097]

1. 変更年月日

1998年 7月22日

[変更理由]

住所変更

住所

愛知県名古屋市中区丸の内3丁目5番10号 住友商事丸の内ビル5F

氏名

株式会社医学生物学研究所

特願 2003-170328

ページ： 4/E

出願人履歴情報

識別番号

[503359821]

1. 変更年月日

2003年10月 1日

[変更理由]

新規登録

住 所

埼玉県和光市広沢2番1号

氏 名

独立行政法人理化学研究所